

05/01-2000 #4  
**BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**



2  
11.12.00

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 100 33 179.3

**Anmeldetag:** 29. Juni 2000

**Anmelder/Inhaber:** Carl Zeiss Jena GmbH, Jena/DE

**Bezeichnung:** Verfahren zur optischen Detektion einer beleuchteten  
Probe in mehreren Detektionskanälen

**IPC:** G 02 B 21/00

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-  
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 29. August 2000  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Der Präsident  
im Auftrag

**BEST AVAILABLE COPY**

Bei Laser-Scanning-Mikroskopen werden zur Beleuchtung und Anregung der Proben Laser unterschiedlicher Wellenlängen eingesetzt. Das Licht von der Probe weist ebenfalls unterschiedliche Wellenlängen auf, abhängig von der Beleuchtung und von der Probe selbst. ( Floreszens). Das von der Probe zurückkommende Licht wird gemessen und ausgewertet in Form von Bilddarstellungen

Bei einem n-kanaligen System müssen alle Kanäle ausgewertet werden um festzustellen, auf welchen der Kanäle wirklich Daten zu erfassen sind.

Üblicherweise gibt es bei Mikroskopsystemen 2-4 Aufnahmekanäle, die bildmäßig ausgewertet werden. Um festzustellen in welchen Kanälen Licht detektiert wird, muß  $n/4$  mal die Probe gescannt und damit auch beleuchtet werden.

Dieser Vorgang ist aufwendig, bedeutet Zeitverlust und unnötige Belastung der Probe durch Laserlicht.

Lösung:

Bei einem n-kanaligen Detektionssystem D werden nach der Verstärkung V n-Komparatoren K bzw. Trigger ( für jeden Detektionskanal einen) eingesetzt, die in ihrer Schaltschwelle durch einen Digital-Analog-Wandler einstellbar sind.

Die Schwelle wird so eingestellt, daß sie oberhalb des Rauschpegels liegt. Der Ausgang der Komparatoren wird jeweils auf ein Register R geführt, welches über einen gemeinsamen Clear-Eingang C verfügt und das von einem Computer gelesen werden kann. Vor einer Messung wird das Register ( n-Bit breit ) zurückgesetzt. Wird nun ein Scann-Durchlauf angestoßen, so werden diejenigen Komparatoren schalten, die ein Signal auf ihren Eingang erhalten das über der eingestellten Schwelle liegt. Kanäle, die z.B. wellenlängenabhängig angeordnet sind und kein Signal senden, das über der Schaltschwelle des Komparators liegt sind für die Auswertung uninteressant und können verachtet oder als Summensignal betrachtet werden. Wird der Komparator als Fensterkomparator ausgeführt und beide Schaltschwellen ( obere und untere ) sind einstellbar ( z.B. über Digital-Analog-Wandler) dann

können Signale separiert und ausgewertet werden, die entweder nur innerhalb der Schwellen oder außerhalb ( unter bzw. über den Schwellen ) liegen.

Schon nach einem Scann kann in dem n-Bit breitem Register abgelesen werden, in welchem der n-Kanäle Daten zu erwarten sind.

Sind die Detektoren noch spektral angeordnet ( Art und Weise ist dabei beliebig) so gibt das Register sofort eine Information über die spektralen Anteile des detektierten Lichtes.

Diese Information ist ein wichtiger Bestandteil für die richtige Einstellung eines n-kanaligen Systems. Aus dieser Information können alle Kanäle auf die jeweiligen Wellenlängen eingerichtet werden ohne subjektive Fehler zu machen. Es besteht die Möglichkeit der Autokonfiguration ( online ) eines Systems in Bezug auf spektrale Aufnahmen. Weiterhin gibt es Hinweise für eine manuelle optimale Auswahl ( off line )

Im Bild 1 wird das Prinzip der Schaltung dargestellt.

Vorteile des erfindungsgemäßen Verfahrens sind:

- bei einem n-kanaligen Detektionssystem stehen sofort Informationen über die aktiven Kanäle bereit
- sind die n-Detektionskanäle spektral empfindlich angeordnet so kann sofort eine Information über die spektralen Anteile angezeigt werden
- sind mehr Detektionskanäle als Aufnahmekanäle vorhanden, so entfällt das mehrmalige Scannen um festzustellen wo Daten vorhanden sind, d.h. geringere Belastung der Probe
- durch Kenntnis der aktiven Kanäle kann das System automatisch die Konfiguration einstellen (aktive Kanäle und Wellenlängenabhängige Einstellungen von Filterkombinationen).
- Das System zeigt an in welchen Kanälen Daten zu erwarten sind und mit welcher Wellenlänge, diese Information erspart dem Operator zeitaufwendige Probeaufnahmen bei manueller Einstellung des Systems

## Patentansprüche

1.

Verfahren zur optischen Detektion einer beleuchteten Probe in mehreren Detektionskanälen,  
wobei für mindestens einen Kanal ein oberer und/ oder unterer Grenzwert einstellbar ist und beim Erreichen dieser Grenzwertes der Detektionskanal bezüglich seiner Betriebsweise verändert wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1,

wobei der Detektionskanal abgeschalten wird oder seine Verstärkung geändert wird oder eine Rückkopplung zur Lichtquelle zur Änderung der Beleuchtungsparameter erfolgt oder die Signale des Detektionskanals bei der Weiterverarbeitung unberücksichtigt bleiben

3.

Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,

wobei eine punktweise Beleuchtung und Detektion erfolgt

4.

Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,

wobei eine parallele Beleuchtung und Detektion erfolgt

5.

Verfahren nach Anspruch 4,

wobei eine Mikrotiterplatte beleuchtet und detektiert wird

6.

Verfahren nach einem der Ansprüche 1-5,

wobei eine spektrale Aufspaltung des von der Probe emittierten Lichtes erfolgt

7.

Verfahren nach Anspruch 6,

wobei zur spektralen Aufspaltung ein dispergierendes Element vorgesehen ist,  
dem ein Multikanaldetektor nachgeordnet ist

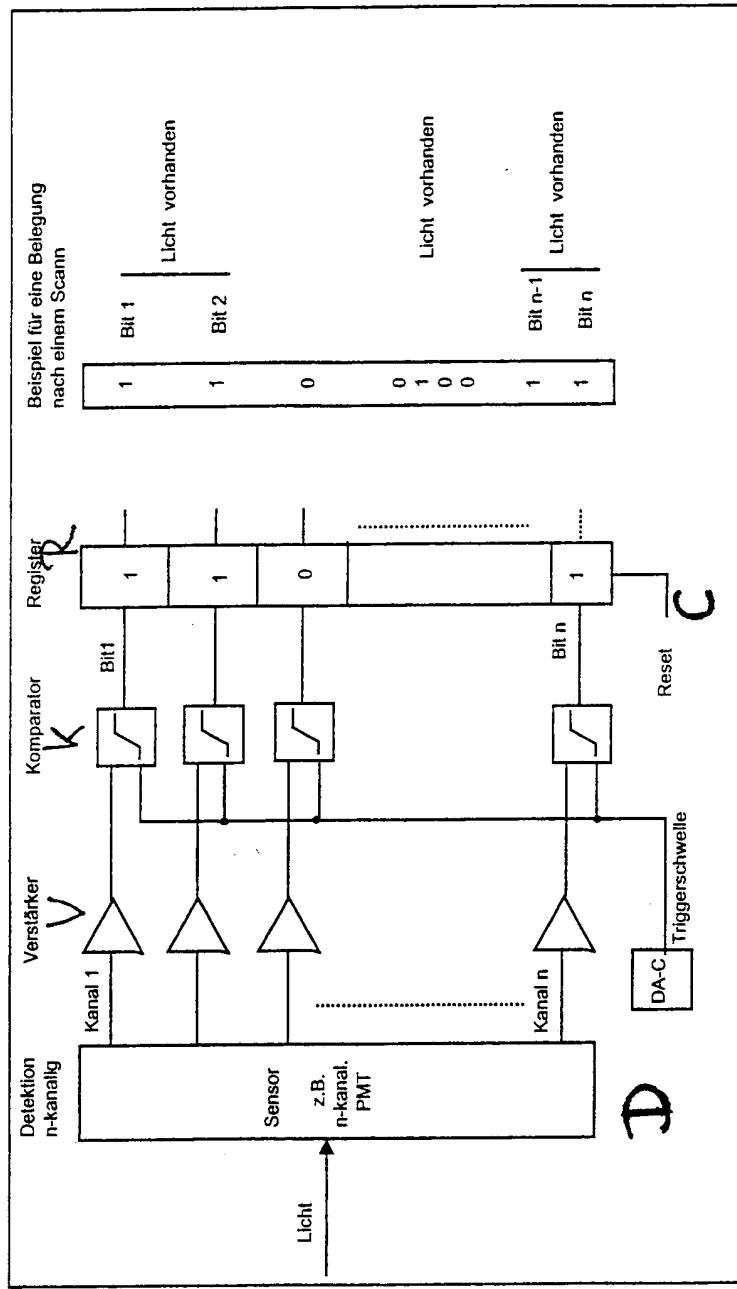


Bild 1